



TITLE:

Tissue-engineered submillimeter-diameter vascular grafts for free flap survival in rat model(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yamanaka, Hiroki

CITATION:

Yamanaka, Hiroki. Tissue-engineered submillimeter-diameter vascular grafts for free flap survival in rat model. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22349>

RIGHT:

DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.06.022

京都大学	博士（医学）	氏 名	山 中 浩 気
論文題目	Tissue-engineered submillimeter-diameter vascular grafts for free flap survival in rat model (ラットモデルにおける遊離皮弁生着のための内径 1mm 未満の組織工学的人工血管)		
(論文内容の要旨)			
<p>内径1mm未満の血管吻合は遊離皮弁術などのマイクロサージャリーで一般的に行われている。吻合血管の長さを補う必要がある場合には自家静脈移植が行われるが、採取源が限られるため、それに代わる小口径人工血管の需要がある。しかし、既存の合成人工血管は内径 4mm 未満では血栓性閉塞が生じるためにマイクロサージャリーでは使用できない。より小口径の人工血管の開存のためには機能的な内腔の構築が重要と考えられており、実際先行研究においても、内径 2mm のダチョウ頸動脈由来脱細胞化血管が、内腔に血管内皮前駆細胞特異的なペプチドリガンド（REDV）を固定化することによって移植後極めて早期に内皮化され良好に開存することが確認された。本研究では、さらに小口径でマイクロサージャリーに適したサイズを備えたラット尾動脈（内径 0.6mm、長さ 5cm）に着目し、これを脱細胞化して内腔にペプチドを固定化した人工血管を作製し、遊離皮弁術に利用可能かどうかをラットモデルで検証した。</p> <p>まず、脱細胞条件とペプチド固定化条件の異なる 4 種類の脱細胞化血管を作製した。内訳は超高静水圧（UHP）処理による脱細胞化血管を 3 種類の温度設定（4, 37, および 60℃）でペプチド修飾したもの（UHP-4, UHP-37, およびUHP-60）と、界面活性剤（SDS）処理による脱細胞化血管を 37℃でペプチド修飾したもの（SDS-37）である。これらの脱細胞化血管について、ペプチド修飾効率と細胞外マトリックス（ECM）の変性、コンプライアンスの変化を評価した。さらに、異型ラットの遊離皮弁モデルにおいて動脈に移植し術後 3 週間における開存率と皮弁生着率を比較した。</p> <p>脱細胞化血管のコンプライアンスは、UHP 処理では軽微な低下に留まり、SDS 処理（SDS-37）で増加し、60℃加温処理によるペプチド修飾（UHP-60）で低下した。これらの変化は走査電子顕微鏡で観察された ECM の変性所見に合致した。移植後 3 週の開存率はUHP-4 で 2/3, UHP-37 で 6/6, UHP-60 で 0/6, SDS-37 で 0/3 であり、変性が比較的重度であったUHP-60 と SDS-37 が開存せず、軽度であったUHP-4 と UHP-37 の 2 種類が開存した結果となった。なお、1 週間以上の開存が得られたケースでは皮弁は全例生着した。</p> <p>本研究で用いたペプチドはコラーゲンを模倣する-(Pro-Hyp-Gly)-の繰り返し配列を持ち、温度依存性に脱細胞化組織への結合量が増加する。実際 UHP 処理血管のペプチドの固定性は、UHP-4 では不良で、UHP-37 と UHP-60 で良好であった。しかしながら UHP-60 はペプチドが良好に固定されていたのにも関わらず開存が得られなかったことから、ペプチドの固定性よりも高温処理に伴う ECM の変性が開存率に大きな悪影響を及ぼしたことが示唆された。</p> <p>以上より、脱細胞過程あるいはペプチド修飾過程で生じる ECM の変性に由来する脱細胞化血管の物性の変化が正常血管との間のコンプライアンスの不一致を招き、短期開存性に悪影響を及ぼしていると考えられた。即ち内径 1mm 未満の超小口径脱細胞化血管の作成においては ECM 構造をできるだけ変化させないことが望ましく、そのためには UHP 処理は優れた方法である。なお UHP-37 では内皮化が確認され、UHP-4 では内皮化が確認できなかったことから、ペプチドが早期内皮化に寄与していることが改めて示唆された。</p>			

<p>臨床では皮弁の自律化にかかる期間は約3週とされており、皮弁の血管茎に移植される人工血管は最低限その期間開存していれば皮弁の生着という目的は達せられる。UHP-37 はECM の変性が軽微であり、早期内皮化を伴う安定した開存が確認され、3週間開存することで皮弁の生着に寄与した。3週間を超える経過観察は今後の課題であるが、本脱細胞化血管は少なくとも皮弁生着のための一時的な血行を担保する目的で利用できる可能性が十分にあることが示された。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>マイクロサージャリーに適したサイズの小口径人工血管は臨床使用されていない。本研究では、内径 1mm 以下の人工血管の開発を目的とし、ラット尾動脈由来脱細胞化血管(内径 0.6mm、長さ 5cm)内腔に血管内皮前駆細胞特異的ペプチド(REDV)を固定化した人工血管を作製し、ラット遊離皮弁モデルで開存性を検証した。超高压処理(UHP)による脱細胞血管を 4℃, 37℃、60℃でペプチド修飾、界面活性剤(SDS)処理による脱細胞血管を 37℃ペプチド修飾の 4 種の人工血管を作製した。細胞外マトリックス（ECM）変性およびペプチド固定性を評価し、腹壁皮弁(epigastric flap)の供給動脈に 5 c mの人工血管を移植して 3 週後の皮弁生着率、血管開存率を比較した。結果、1 週間以上の開存が得られたケースでは皮弁は全例生着した。本脱細胞化血管は遊離皮弁生着までの期間の血流保持のためには十分使用できる可能性があることが示された。特に、37℃ペプチド修飾人工血管は、ECM 変性が軽度、ペプチド固定性も良好で、100% 開存し、組織学的に早期の内皮形成が確認された。ECM の変性が重度であった SDS,UHP60 ℃処理血管では開存率が不良で、ECM 構造の温存が小口径血管の開存に必要であることが示唆された。さらに、開存血管においてはペプチドの固定性が内皮化の有無と相関していることも示唆された。</p> <p>以上の研究は、小口径血管人工結果の開存機序の解明に貢献し、今後の人工血管開発及び臨床応用に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和2年2月17日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日以降